



OPTIMIZACIÓN DE LA GINOGENÉISIS EN GERMOPLASMA ESPAÑOL DE CEBOLLA

O. Fayos¹, M.P. Vallés², A. Garcés-Claver¹, C. Mallor¹, A.M. Castillo²

¹Unidad de Hortofruticultura, Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA), Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza, España.

²Departamento de Genética y Producción Vegetal, Estación Experimental de Aula Dei, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (EEAD-CSIC), Avda. Montañana 1005, 50059 Zaragoza, España.



La depresión por consanguinidad y la floración bienal, que presenta el cultivo de cebolla, son factores que dificultan la obtención de líneas puras. La inducción de ginogénesis *in vitro*, es la única estrategia que permite, tras la duplicación cromosómica, la obtención de plantas completamente homocigóticas (doblehaploides)(Fayos y col., 2015).

El objetivo del presente trabajo se centra en evaluar y optimizar la capacidad ginogenética del germoplasma español. Para ello, se compararon dos protocolos de inducción de ginogénesis y contenedores con diferentes niveles de aireación en la fase de elongación de las plantas. Además, se ensayó la embriogénesis somática como método alternativo para la duplicación cromosómica de las plantas haploides y mixoploides.

Se utilizaron tres cultivares españoles: la población Fuentes de Ebro, seleccionada por su baja pungencia y las variedades BGHZ1354 y Recas, ambas de alta pungencia. Como control se utilizó la población sintética OH-1, caracterizada por su alta capacidad ginogenética. Los embriones ginogenéticos obtenidos se duplicaron con amiprofosmetilo (APM) y se transfirieron a un medio de elongación (Jakše y Bohanec, 2003). Las plántulas se trasplantaron a tierra, en invernadero, para su desarrollo y polinización para la obtención de semillas (Figura 1 H e I). El nivel de ploidía de las plántulas obtenidas se realizó mediante citometría de flujo (Partec PAS).

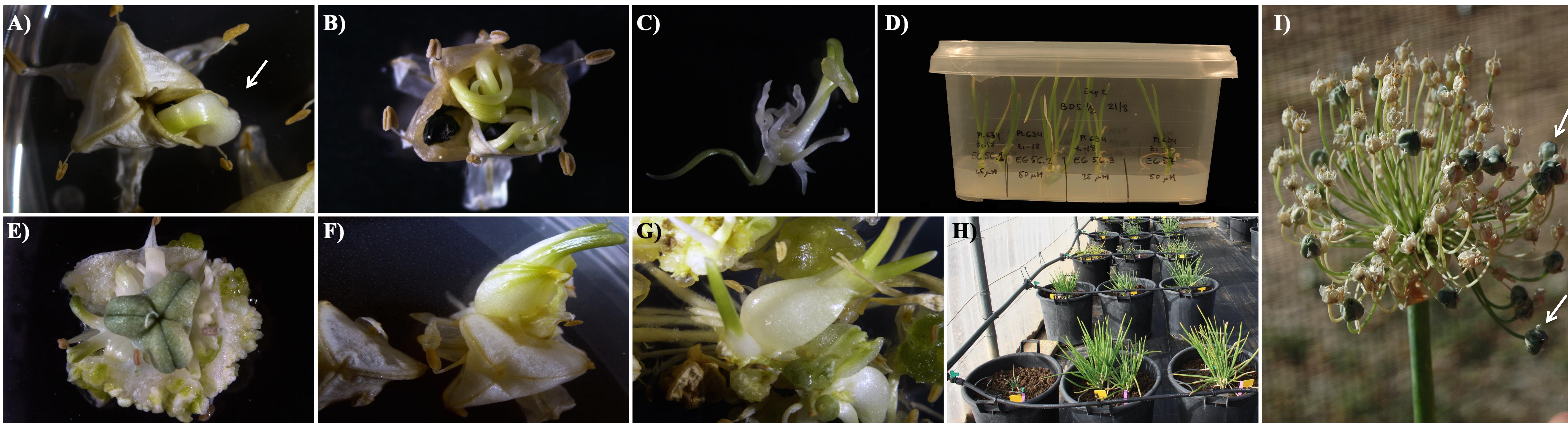


Figura 1. Estrategias de embriogénesis para la obtención de semillas de plantas doblehaploides. A y B) Embriones ginogenéticos emergiendo de flores de los cultivares Fuentes de Ebro y OH-1, respectivamente. C) Embrión ginogenético aislado del cultivar Recas. D) Elongación de plántulas en caja Eco2Box. E) Primeros estadios de embriogénesis somática en BGHZ1354. F y G) Embrión somático de Fuentes y BGHZ1354, respectivamente. H) Trasplante al suelo. I) Umbela en el momento de recogida de las semillas.

COMPARACIÓN DE PROTOCOLOS

Se cultivaron entre 1100 y 1600 flores de cada genotipo siguiendo los protocolos descritos por descrito por Jakše y Bohanec (2003) (protocolo A) y por Michalik y col. (2000) (procolo B) (Figuras 2 y 3).

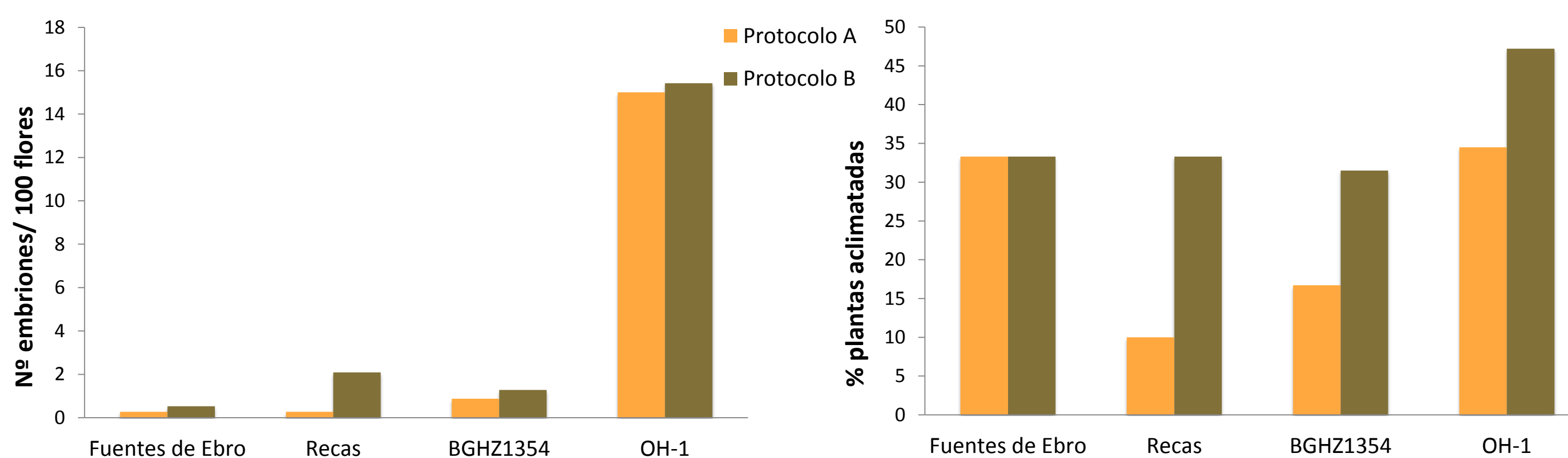


Figura 2. Frecuencias de inducción de embriones con los dos protocolos.

Se obtuvieron embriones ginogenéticos en todos los cultivares (Figura 1 A, B y C). En el germoplasma español, el protocolo B produjo frecuencias de inducción de ginogénesis hasta tres veces más altas que el protocolo A. En la población OH-1 se obtuvieron frecuencias de inducción similares en ambos protocolos.

En todos los cultivares, el protocolo B dio lugar a mayores porcentajes de plantas aclimatadas.

COMPARACIÓN DE CONTENEDORES PARA ELONGACIÓN DE PLANTAS

Los embriones de la población OH-1 obtenidos en ambos protocolos, se distribuyeron en contenedores con diferentes niveles de aireación (Figura 4).

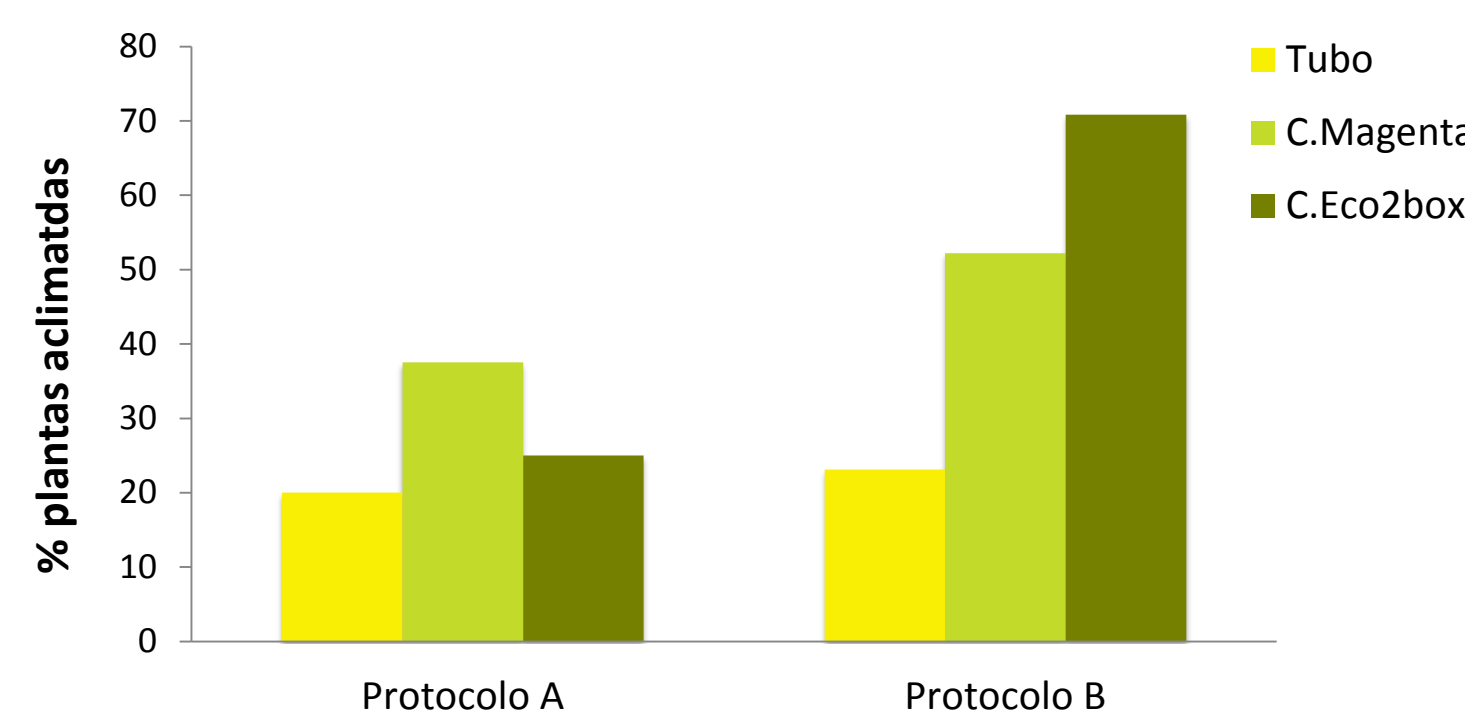


Figura 4. Porcentajes de plantas aclimatadas en función del protocolo y contenedor (Ttubo de cultivo, caja magenta y caja Eco2box).

Los mayores porcentajes de plantas aclimatadas se produjeron con las cajas Eco2Box y el protocolo B (Figura 1 D). No se encontraron diferencias significativas entre contenedores en el protocolo A.

DUPLICACIÓN CROMOSÓMICA MEDIANTE EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA

La duplicación cromosómica con APM produjo plantas haploides, mixoploides y doblehaploides. Se utilizó la embriogénesis somática como estrategia para la duplicación cromosómica de las plantas haploides y mixoploides siguiendo el protocolo descrito por Jakse y col. (2010) (Figura 1 E, F y G).

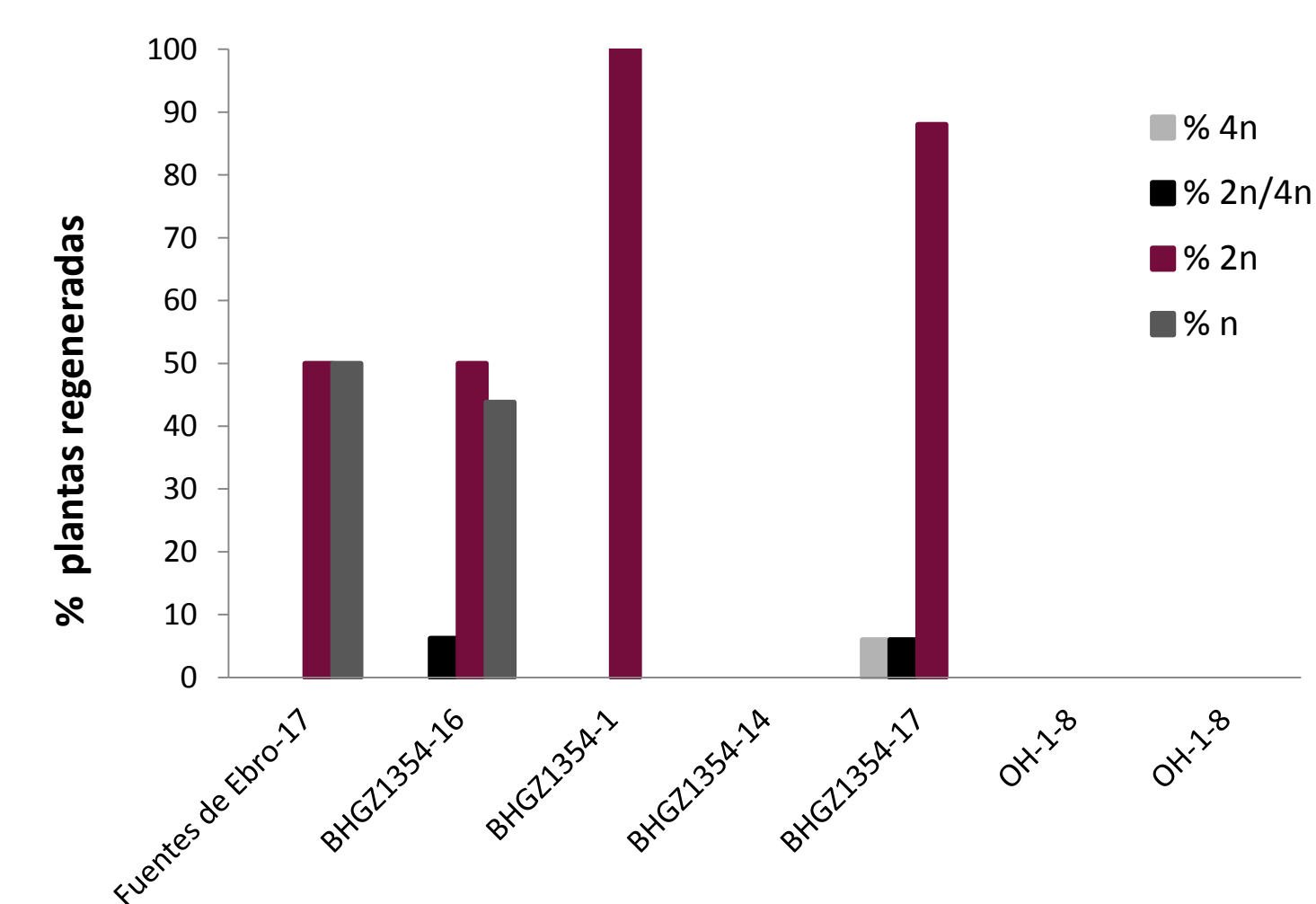


Figura 5. Porcentajes de niveles de ploidía de las plantas obtenidas mediante embriogénesis somática.

Se regeneraron 4 de las 7 líneas ginogenéticas obteniéndose plantas diploides de todas las líneas regeneradas. Los porcentajes de duplicación variaron entre 50-100% (Figura 5).

Referencias:

Fayos O, Vallés MP, Garcés-Claver A, Mallor C, Castillo AM (2015). Front Plant Sci 384 (6):1-11. Jakše M Bohanec B (2003). En: Maluszynski M, Kasha KJ, Forster BP, Szarejko I (eds) Doubled haploid production in crop plants. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/Boston/London, pp 281-285. Jakše M, Hirschegger P, Bohanec B, Havey MJ (2010). J Amer Soc Hort Sci 135:67-73. Michalik B, Adamus A, Nowak E (2000). J Plant Physiol 156(2):211-216.

Agradecimientos: O Fayos es beneficiaria de una beca INIA. Este trabajo ha sido financiado por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria cofinanciado con FEDER (INIA-FEDER) (RTA2011-00118-C02), un Convenio CITA-CSIC y Gobierno de Aragón (Grupo A16 y A06).